高脂饲料中添加绿原酸对草鱼生长性能和脂质代谢的影响

杨天俊[1,2] 陈彦良[1] 刘文舒[1] 郭小泽[1] 唐艳强[1] 刘玉廷[1,2] 黎德兵[2*] 李思明[1*]

(1.江西省农业科学院，南昌 330200;2.四川农业大学动物科技学院，成都 611130)

摘 要：本试验旨在探讨高脂饲料中添加绿原酸(CGA)对草鱼生长性能和脂质代谢的影响。选择健康、初始体重为（7.53±0.30）g 的草鱼 360 尾，随机分为 4 组，C(对照)、200CGA、400CGA、600CGA 组分别饲喂 CGA 添加水平为 0、200、400、600 mg/kg 的高脂饲料（粗脂肪含量约为 9.00%），每组 3 重复，每重复 30 尾，饲喂 11 周。结果表明，与 C 组相比：1）400CGA 组鱼终末体重、增重率、蛋白质效率均显著提高（$P<0.05$），其中终末体重增加 15.90%，增重率提高 22.96%，蛋白质效率提升 17.75%,饲料系数显著降低（$P<0.05$），降低 14.86%；2）200CGA、400CGA 组血清总胆固醇（T-CHO）、低密度脂蛋白胆固醇（LDL-C）含量显著降低（$P<0.05$），试验组血清高密度脂蛋白胆固醇（HDL-C）含量显著提高（$P<0.05$）；3）试验组肝胰脏甘油三酯（TG）、T-CHO、LDL-C 含量显著降低（$P<0.05$），肝胰脏肝酯酶（HL）、总酯酶(TL)活力显著提高（$P<0.05$），400CGA、600CGA 组肝胰脏 HDL-C 含量显著提高（$P<0.05$），400CGA 组肝胰脏脂蛋白脂酶(LPL)活力显著提高（$P<0.05$）；4）透射电镜切片结果显示，400CGA、600CGA 组肝胰脏细胞内脂滴体积小、数量少、分布较稀疏。结果提示，高脂饲料中 CGA 添加水平为 400 mg/kg 时，可促进草鱼机体脂质代谢，改善生长性能。

关键词：草鱼；绿原酸；高脂饲料；生长性能；脂质代谢

中图分类号：S963

鱼类因消化道较短，消化酶活力低，对饲料蛋白质利用率低[1]，易导致水体氨氮含量过

收稿日期：2018-01-26

基金项目：国家自然科学基金地区科学基金项目（31660743）；江西省特种水产产业技术体系（JXARS-10）；江西现代农业科研协同创新专项（JXXTCX2015004-009）；江西省青年科学基金项目（20171BAB214015）

作者简介：杨天俊（1989—），男，四川泸州人，硕士，研究方向为特种经济动物养殖。E-mail：584846918@qq.com

*通信作者：黎德兵，教授，硕士生导师，E-mail： 932088457@qq.com；李思明，研究员，博士生导师，E-mail： Lisiming16@126.com

高，制约鱼类生长和引发鱼类疾病。为降低水体环境中的氮磷含量，预防鱼类爆发疾病，实际养殖过程中在保证饲料营养均衡的条件下，普遍采取减少饲料蛋白质水平和适量提高脂肪水平的策略[2]，这种养殖策略可达到促进鱼体生长、保护养殖水域的目的[3]。正常情况下，草鱼饲料脂肪需求水平为3%~7%[4]，当饲料脂肪水平过高时易致使鱼体脂肪蓄积过量，肝胰脏等组织受到损伤，反而导致鱼体生长缓慢，饲料系数上升[5-8]，养殖效益下降。

草鱼摄食量大，对高脂饲料利用能力低，摄食高脂饲料极易使鱼体脂肪沉积过多，机体脂质代谢发生紊乱[9]。有报道指出，忍冬属或杜仲属中草药植物中提取的绿原酸(chlorogenic acid，CGA)具有抗菌、消炎、抗氧化的特性[10-12]。亦有大量研究报道 CGA 具有促生长，降脂糖等效用[13-15]。CGA 作为饲料添加剂对凡纳滨对虾生长性能[16]及对草鱼肌肉品质的影响[17]已有文献报道，但 CGA 对鱼类脂质代谢的研究尚未见报道。为此，本试验拟在高脂饲料（粗脂肪含量约为 9.00%）中添加不同水平 CGA，研究 CGA 对草鱼生长性能和脂质代谢的影响，旨在探索解决由高脂饲料引起鱼脂肪蓄积过多而致鱼体生长缓慢、脂质代谢紊乱等问题，为 CGA 应用于草鱼等水生动物养殖和开发新型水产添加剂提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验饲料

由于草鱼脂肪需要水平范围为3%~7%，本试验设计饲料中豆油添加水平为8%（饲料粗脂肪含量约为 9.00%）。CGA（购自 Sigma 公司，纯度≥95%）添加水平参考张纯[18]、王芸[19]等对建鲤、中华鳖、凡那纳滨对虾的研究报道，分别为基础饲料中添加 0（C）、200(200CGA)、400(400CGA)、600 mg/kg CGA(600CGA)，以微晶纤维素为填充物调节各饲料总量一致。饲料原料粉碎后经 60 目筛筛出粉料，过筛粉料逐级混匀，豆油在所有粉料混匀之后添加，待豆油混匀之后，加入适量蒸馏水拌匀，以小型制粒机制作直径约为 1~2 mm 的粒状饲料，制备的饲料颗粒于阴凉干燥处配合风扇风干 48 h，然后密封于自封袋中，-20 ℃条件下贮存备用。试验饲料组成及营养水平见表 1。

表 1 试验饲料组成及营养水平（风干基础）

Table 1 Composition and nutrient levels of experimental diets （air-dry basis） %

项目 Items	饲料 Diets			
	C	200CGA	400CGA	600CGA
原料 Ingredients				
鱼粉 Fish meal	2.0	2.0	2.0	2.0

豆粕 Soybean meal	20.0	20.0	20.0	20.0
菜籽粕 Rapeseed meal	23.0	23.0	23.0	23.0
棉籽粕 Cottonseed meal	9.0	9.0	9.0	9.0
米糠 Rice bran	5.0	5.0	5.0	5.0
面粉 Wheat flour	28.0	28.0	28.0	28.0
豆油 Soybean oil	8.0	8.0	8.0	8.0
维生素预混料 Vitamin premix	0.5	0.5	0.5	0.5
矿物质预混料 Mineral premix	0.5	0.5	0.5	0.5
氯化胆碱 Choline choride	0.5	0.5	0.5	0.5
磷酸二氢钙 Ca（H_2PO_4）$_2$	2.0	2.0	2.0	2.0
维生素 C 磷酸酯 Vitamin C phosphate ester	0.5	0.5	0.5	0.5
微晶纤维素 Microcrystalline cellulose	1.0	1.0	1.0	1.0
合计 Total	100.0	100.0	100.0	100.0
额外添加 Extra supplementation				
绿原酸 CGA/(mg/kg)		200	400	600
营养水平 Nutrient levels				
粗蛋白质 Crude protein	26.9	26.9	26.3	27.3
粗脂肪 Crude lipid	8.61	9.01	9.14	8.87
粗灰分 Ash	6.7	6.8	6.8	6.9
水分 Moisture	11.6	10.8	10.4	10.2

1)每千克维生素预混料含有 Contained the following per kg of the vitamin premix:VA 350 000 IU,VD_3 450 000 IU,VE 20 g,VK_3 7.5 g，VB_1 10 g，VB_2 10 g，VB_6 12 g，VB_{12} 20 mg，烟酰胺 nicotinamide 40 mg，叶酸 folic acid 3 g，泛酸钙 calcium pantothenate 30 g，生物素 biotin 100 mg，VC 60 g，肌醇 inositol 60 g。

2)每千克矿物质预混料含有 Contained the following per kg of the mineral premix：NaH_2PO_4 100 g，KH_2PO_4 215 g，$Ca(H_2PO_4)_2 \cdot 2H_2O$ 265 g，$CaCO_3$ 105 g，乳酸钙 Ca-lactate 165 g，$MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 100 g，$AlCl_3 \cdot 2H_2O$ 12 g，$ZnSO_4 \cdot 7H_2O$ 5.11 g，柠檬酸铁 Fe-citrate 0.61 g，$MnSO_4 \cdot 4H_2O$ 1.43 g，KI 0.58 g，$CuCl_2$ 0.51 g，$CoCl_2 \cdot 6H_2O$ 1.76 g，KCl 28 g。

1.2 试验设计及饲养管理

试验所用草鱼由江西省水产研究所提供，鱼苗运抵江西省农科院畜牧研究所经高锰酸钾消毒及水温适应后放养于室内循环养殖系统，该系统含 20 个直径 100 cm，高 80 cm 的圆形水池，可进行水温控制，养殖用水氨氮含量小于 0.05 mg/L，pH 为 7.5 左右，溶氧含量大于 5 mg/L。养殖过程中 24 h 曝气增氧，预试期 10 d，之后选取活力强体质优大小为（7.53±0.30）g 草鱼 360 尾，随机分为 4 组，分别饲喂 1 种上述试验饲料，每组 3 重复，每重复 30 尾，每个重复的 30 尾放养于 1 个水池。每日 09:00 和 16:00 按分组进行投喂，日投喂量为草鱼体重的 5%～7%，每周换水以及虹吸排污 2～3 次，每次换水约为水池水体总量的 1/3。正试

期于 2016 年 8 月 24 日开始，2016 年 11 月 8 日结束，为期 11 周。

1.3　样本采集

正试期结束前 24 h 停止投喂，对整池的草鱼进行称重计数，每组鱼随机选取 18 尾（每重复 6 尾）进行体长、体宽的测量，置于解剖盘中完整取其内脏，磷酸盐缓冲液（PBS）洗净，经由滤纸吸干后称重。再每组随机抽取 6 尾鱼进行全鱼的常规营养成分测定，所抽取的全鱼样本整理编号后贮存于-80 ℃中保存待测。

每组鱼随机取 18 尾（每重复 6 尾）试验鱼，麻醉后用量程为 1 或 2 mL 的一次性注射器进行尾部静脉采血，于 4 ℃条件下自然凝固，过夜，冷冻离心机 3 500 r/min 离心 15 min，采集血清置于-20 ℃中保存待测，草鱼血液采集完毕后置于解剖盘中，打开腹腔，完整取出内脏，分离出肝胰脏并用 PBS 洗净，滤纸除去表面水分，于-80 ℃环境下贮存待测。

1.4　制备肝胰脏匀浆液

肝胰脏匀浆液的制备：保存于-80 ℃条件下的肝胰脏样本逐级解冻（-20、4 ℃）后[20]，取出肝胰脏样本并精确称重，在量程为 20 mL 的玻璃匀浆器中按照肝胰脏重量精准地加入 9 倍体积温度为 4 ℃的 0.68%生理盐水，冰浴条件下缓慢研磨 3～5 min，匀浆液在低温冷冻离心机中 3 000 r/min 离心 10 min，用洁净的、消毒过的棉签清除匀浆液表层脂质，小心吸取离心后取上清液，分装编号，于-80 ℃条件下储存待测。

1.5　肝胰脏透射电镜切片

取出草鱼肝胰脏，用 PBS 冲洗 3 遍，切取 1 mm 左右的肝胰脏于 2.5％戊二醛固定 4 h 以上，然后用 PBS 漂洗 2 次，每次 1 h，再经 1%锇酸固定 1 h，PBS 漂洗 2 次，每次 5 min，后乙醇脱水。样本用 1,2-环氧丙烷漂洗 2 次，每次漂洗 10 min，环氧丙烷与环氧树脂（1∶1）混匀后，将样本浸没其中，静置 1 h 后包埋在带标签纸的模型中，放置过夜后放入 60 ℃烘箱 48 h，然后切片（透射电镜 50~60 nm），染色（透射电镜:1%铀染色 10 min），最后进行图片采集和分析（每组 9 个样本）。

1.6　指标测定

1.6.1　生长性能指标测定

记录初始体重(initial body weigh，IBW)、终末体重（final body weight，FBW)，饲料摄入量等数据，计算增重率（weight gain rate,WGR）、饲料系数(feed coefficient,FC)，

脏体指数(viscerosomatic index,VSI)、肥满度(condition factor,CF)、蛋白质效率(protein efficiency ratio,PER)、成活率(survival rate,SR)，计算公式如下：

$$WGR（\%）=(W_e-W_s)/W_s\times100；$$

$$FC=（W_e-W_s）/W_f；$$

$$VSI（\%)=W_v/W_e\times100；$$

$$CF(g/cm^3)=W_e/L^3；$$

$$PER(\%)=（W_e-W_s）/W_p\times100；$$

$$SR(\%)=n_e/n_s\times100。$$

式中：W_e为 FBW(g)；W_s为 IBW(g)；t 为试验持续时间(d)；W_f为饲料干物质摄入量(g)；W_v为内脏重(g)；L 为体长(cm)；W_p为饲料中粗蛋白质含量(%)；n_e、n_s分别为草鱼养殖期间终末和初始鱼尾数。

1.6.2　全鱼常规营养成分测定

草鱼全鱼水分含量测定采用 105 ℃恒温烘干失重法(GB 5009.3-2010)；粗蛋白质含量测定采用凯氏定氮法(GB 5009.5-2010)；粗脂肪含量测定采用索氏抽提法(GB 5009.4-2010)；粗灰分含量测定采用马福炉高温灼烧法(GB 5009.4-2010)。

1.6.3　脂质代谢指标测定

脂质代谢指标血清和肝胰脏甘油三酯（TG）、总胆固醇（T-CHO）、高密度脂蛋白胆固醇（HDL-C）、低密度脂蛋白胆固醇（LDL-C）含量及肝胰脏肝酯酶（HL）、脂蛋白脂酶(LPL)、总酯酶(TL)活力测定试剂盒购于南京建成生物工程研究所，按试剂盒说明书测定脂质代谢指标。

1.7　数据统计分析

试验数据采用 SPSS 20.0 软件进行单因素方差分析，若差异显著，进一步进行 Duncan 氏法多重比较，差异显著水平设定为 $P<0.05$,结果以平均值±标准差表示。

2　结果与分析

2.1　高脂饲料中添加 CGA 对草鱼生长性能的影响

由表 2 可知，各组草鱼终末体长、脏体指数无显著差异（$P>0.05$）；随着 CGA 添加水平的提高，终末体重、增重率、蛋白质效率均显示出先升高后下降的趋势，400CGA 组最高，

与C组差异显著（P＜0.05），其中终末体重增加15.90%，增重率提高22.96%，蛋白质效率提升17.75%；与C组对比，试验组饲料系数呈现集体下降，400CGA组显著低于C组（P＜0.05），降低了14.86%；鱼体肥满度随着CGA添加水平提高而升高，600CGA组显著高于C组（P＜0.05）；各组草鱼存活率均为100%。

表2　高脂饲料中添加CGA对草鱼生长性能的影响

Table 2　Effects of chlorogenic acid supplementation in high-fat diets on growth performance of grass carp

项目	组别 Groups			
Items	C	200CGA	400CGA	600CGA
初始体重 IBW/g	7.54±0.03	7.53±0.06	7.45±0.02	7.57±0.01
终末体重 FBW/g	23.96±0.42^{a}	24.22±0.543^{a}	27.77±0.58^{b}	23.66±0.74^{a}
终末体长 FBL/g	11.04±0.44	11.25±0.73	11.77±0.25	11.73±0.95
增重率 WGR/%	217.94±4.50^{a}	221.05±8.50^{a}	267.97±8.63^{b}	212.71±9.37^{a}
饲料系数 FC	2.22±0.63^{b}	2.06±0.93^{b}	1.89±0.14^{a}	2.08±0.24^{b}
脏体指数 VSI/%	13.38±0.64	13.15±0.47	13.99±0.34	12.56±0.81
肥满度 CF/%	45.24±0.17^{a}	45.52±0.40^{ab}	46.38±0.89^{ab}	46.85±0.57^{b}
蛋白质效率 PER/%	1.69±0.03^{a}	1.81±0.06^{ab}	1.99±0.11^{b}	1.7±0.21^{ab}
成活率 SR/%	100	100	100	100

同行数据肩标不同小写字母表示差异显著(P<0.05)。下表同。

Values in the same row with different small letter superscripts mean significant difference (P<0.05). The same as below.

2.2　高脂饲料中添加CGA对草鱼全鱼常规营养成分的影响

由表3可知，各组全鱼水分含量无显著差异（P＞0.05）；400CGA组全鱼粗蛋白质含量显著高于其他组且粗脂肪含量显著低于其他组（P＜0.05）；C组全鱼粗灰分含量显著高于400CGA组（P＜0.05）。

表3　高脂饲料中添加CGA对草鱼全鱼常规营养成分的影响

Table 3　Effects of chlorogenic acid supplementation in high-fat diets on conventional nutrient composition of whole body of grass carp

项目	组别 Groups			
Items	C	200CGA	400CGA	600CGA
水分 Moisture	78.10±0.26	78.00±0.70	78.03±0.64	77.97±0.67
粗蛋白质 Crude protein	17.50±0.40^{a}	17.50±0.26^{a}	18.17±0.21^{b}	17.73±0.29^{a}
粗脂肪 Crude lipid	3.53±0.64^{b}	3.57±0.92^{b}	3.13±0.32^{a}	3.48±0.40^{b}
粗灰分 Ash	1.30±0.00^{b}	1.23±0.06^{ab}	1.20±0.00^{a}	1.27±0.06^{ab}

2.3 高脂饲料中添加 CGA 对草鱼血清及肝胰脏中脂质指标的影响

2.3.1 血清中脂质指标

由表 4 可知，草鱼血清中各组的 TG 含量差异不显著(P>0.05)；C 组血清 T-CHO 含量显著高于 200CGA、400CGA 组(P<0.05)，与 600CGA 组差异不显著(P>0.05)；C 组血清 HDL-C 含量显著低于各试验组(P<0.05)；C 组血清 LDL-C 含量显著高于 400CGA、600CGA 组(P<0.05)，与 200CGA 组差异不显著(P>0.05)。

表 4 高脂饲料中添加 CGA 对草鱼血清中脂质指标的影响

Table 4 Effects of chlorogenic acid supplementation in high-fat diets on lipid indicators in serum of grass carp

mol/L

项目 Items	组别 Groups			
	C	200CGA	400CGA	600CGA
甘油三酯 TG	2.29±0.59	2.18±0.62	2.37±0.60	2.34±0.48
总胆固醇 T-CHO	8.85 ± 0.95^{b}	6.77 ± 0.58^{a}	5.54 ± 0.87^{a}	7.83 ± 1.04^{ab}
高密度脂蛋白胆固醇 HDL-C	3.11 ± 0.42^{a}	3.89 ± 0.12^{b}	3.64 ± 0.20^{b}	4.39 ± 0.32^{b}
低密度脂蛋白胆固醇 LDL-C	3.13 ± 0.50^{b}	2.75 ± 0.78^{b}	2.40 ± 1.03^{a}	2.10 ± 0.36^{a}

2.3.2 肝胰脏中脂质指标

由表 5 可知，C 组肝胰脏中 TG、T-CHO 含量显著高于其余各组(P<0.05)，400CGA、600CGA 组肝胰脏中 HDL-C 含量显著高于 C 组(P<0.05)，但 C 组与 200CGA 组差异不显著(P>0.05)；C 组肝胰脏中 LDL-C 含量显著高于其余各组(P<0.05)。

表 5 高脂饲料中添加 CGA 对草鱼肝胰脏中脂质指标的影响

Table 5 Effects of chlorogenic acid supplementation in high-fat diets on lipid indicators in hepatopancreas of grass carp mol/mg prot

项目 Items	组别 Groups			
	C	200CGA	400CGA	600CGA
甘油三酯 TG	0.53 ± 0.04^{b}	0.27 ± 0.02^{a}	0.18 ± 0.05^{a}	0.2 ± 0.09^{a}
总胆固醇 T-CHO	0.30 ± 0.09^{b}	0.20 ± 0.05^{a}	0.16 ± 0.06^{a}	0.18 ± 0.08^{a}
高密度脂蛋白胆固醇 HDL-C	0.05 ± 0.01^{a}	0.08 ± 0.01^{ab}	0.14 ± 0.07^{b}	0.15 ± 0.03^{b}
低密度脂蛋白胆固醇 LDL-C	0.22 ± 0.02^{b}	0.10 ± 0.02^{a}	0.09 ± 0.04^{a}	0.12 ± 0.04^{a}

2.4 高脂饲料中 CGA 对肝胰脏中脂质代谢酶活力的影响

由表 6 可知，试验组肝胰脏中 HL 活力显著高于 C 组(P<0.05)；400CGA 组肝胰脏中 LPL 活力显著高于 C 组(P<0.05)；试验组肝胰脏中 TL 活力均显著高于 C 组(P<0.05)。

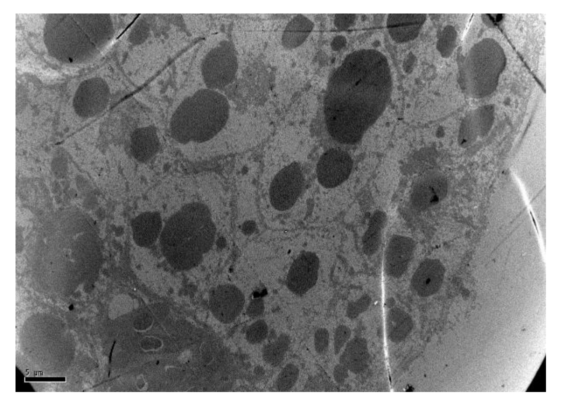
表 6 高脂饲料中添加 CGA 对草鱼肝胰脏中脂质代谢酶活力的影响

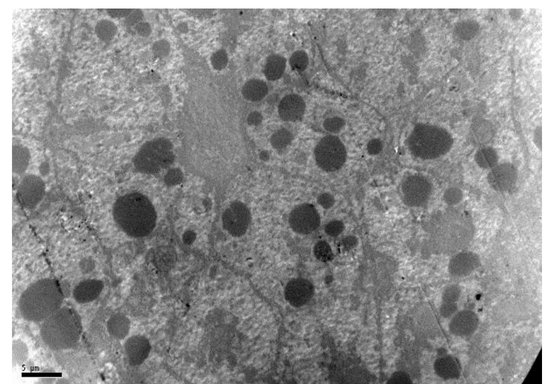
Table 6 Effects of chlorogenic acid supplementation in high-fat diets on lipid metabolism enzyme activities in hepatopancreas of grass carp U/mg prot

项目	组别 Groups			
Items	C	200CGA	400CGA	600CGA
肝酯酶 HL	1.89±0.36[a]	3.64±0.57[b]	3.49±0.91[b]	3.52±0.77[b]
脂蛋白脂酶 LPL	1.28±0.10[a]	1.68±0.23[ab]	2.21±0.18[b]	2.00±0.30[ab]
总酯酶 TL	3.17±0.39[a]	5.31±0.65[b]	5.70±1.10[b]	5.53±0.58[b]

2.5 高脂饲料中添加 CGA 对肝胰脏细胞中脂质沉积的影响

组织切片中肝胰脏细胞脂质经锇酸还原后呈黑色，见图 1。由图可知，C 组脂滴分布密集，数量较多，且体积较大，大量脂质沉积于肝胰脏细胞中；与 C 组相比，试验组脂滴的体积都明显变小，且脂滴的分布也较稀疏，脂质沉积变少，尤以 400CGA、600CGA 组明显；进一步比较 400CGA 和 600CGA 组可看出，400CGA 组中肝胰脏中脂滴数量、大小、分布密度均小于 600CGA 组。

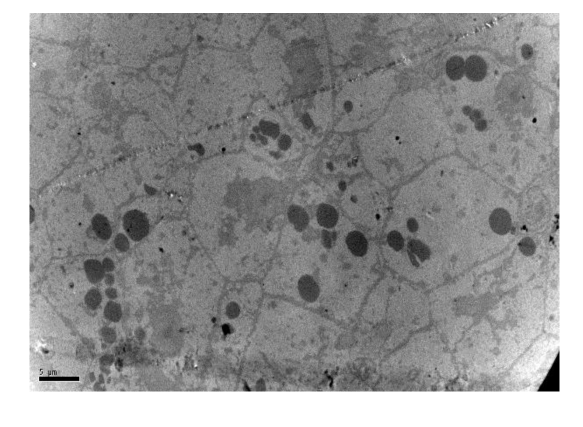


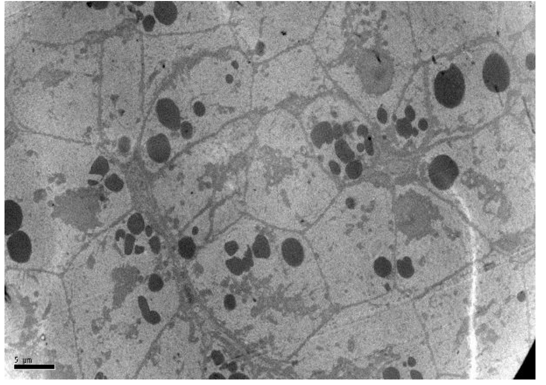


C 组 C group



200CGA 组 200CGA group





400CGA 组 400CGA group

600CGA 组 600CGA group

图 1 透射电镜下肝胰脏细胞中脂质沉积情况（标尺：5 μm）

Fig.1 Lipid deposition in hepatopancreas under transmission electron microscope （scale： 5 μm）

3 讨 论

3.1 高脂饲料中添加 CGA 对草鱼生长性能的影响

CGA 作为脂类物质，在胃和小肠中以原型的方式被吸收，进入血液后发挥其抗氧化和降脂等作用[21-22]。目前，CGA 对畜禽的促生长、抗氧化、降脂、降糖等作用已被广泛关注，且 CGA 作为饲料新型添加剂在水产养殖中应用研究已有零星报道。肖洋[23]报道饲料中添加 200 mg/kg CGA 能够提高中华鳖生长性能；张纯[18]研究表明，建鲤饲料中添加 200 mg/kg CGA 显著提高了建鲤鱼体的增重率，且 CGA 对肠道发育具有促进作用，建鲤生长性能改善可能与此有关；本试验结果显示，与 C 组对比，添加 400 mg/kg CGA 显著提高了草鱼终末体重、增重率和蛋白质效率，其中草鱼终末体重增加 15.90%，增重率提高 22.96%，蛋白质效率提升 17.75%，饲料系数显著降低了 14.86%；肥满度随着 CGA 添加水平提高呈现缓慢提升趋势，添加 600 mg/kg CGA 显著提高了肥满度。由以上试验结果可知，400 mg/kg CGA 的添加使草鱼生长性能得到提高，可较好促进草鱼生长。本试验与上述相关研究结果在获得较好生长性能的添加水平上不尽相同，分析原因可能与鱼的种类、饲养周期、饲料中营养成分含量以及 CGA 来源等有关。

3.2 高脂饲料中添加 CGA 对草鱼全鱼常规营养成分的影响

本试验发现，高脂饲料中添加 CGA 对全鱼粗脂肪、粗蛋白质、粗灰分含量均产生显著的影响，400CGA 组全鱼粗蛋白质含量显著高于其他组，说明添加 400 mg/kg CGA 促进了草鱼对饲料蛋白质的利用，这一结果与朱卫等[24]在点篮子鱼中研究结果有所差异。罗非鱼、比目鱼、鲈鱼研究报道发现，饲料中所含粗脂肪含量过高时，多余的未被代谢脂肪会沉积于鱼体内[6-7,25]。本试验中，400CGA 组全鱼粗脂肪含量显著低于其余组则表明添加 400 mg/kg CGA 可有效地降低鱼体脂质的沉积。CGA 的添加均可降低全鱼粗灰分含量，且 C 组显著高于 400CGA 组，究其原因可能是 C 组缺乏 CGA 辅助草鱼机体脂质代谢，致使鱼体脂质沉积增加，而多余的脂质可促进机体对维生素 A、维生素 D、维生素 E、维生素 K 的吸收，并在机体内沉积大量的能量源物质[26]，并且这些脂溶性维生素参与鱼体多种生理生化反应，从而增加了鱼体的无机盐沉积，导致了粗灰分含量增高，目前这一推测还有待论证。本试验中，与 C 组相比，添加 400 mg/kg CGA 对全鱼粗脂肪、粗蛋白质含量均有显著影响，说明高脂饲料中添加 400 mg/kg CGA 可以有效地提高草鱼的营养价值。

3.3 高脂饲料中添加 CGA 对草鱼脂质代谢的影响

3.3.1 血清和肝胰脏中脂质代谢

Shimoda 等[27]报道了口服 CGA 可减少大鼠内脏脂肪的蓄积，降低大鼠机体脂质含量；De Sotillo 等[28]通过给予小鼠静脉注射 CGA，发现大鼠肝脏和血浆中的 TG 含量显著降下；Frank 等[29]研究也证明，在大鼠饲料中加入 CGA 后，降低了肝脏的 T-CHO 含量；张兰涛等[30]发现灌服 20 mg/mL 的 CGA 可显著降低小鼠肝脏、骨骼肌 TG 含量；王强等[31]报道了金银花提取物 CGA 能有效降低血清和肝脏的 T-CHO 的含量。本试验发现，添加 CGA 有效地降低了血清中 T-CHO、LDL-C 含量以及提高了血清中 HDL-C 含量，由此可知 CGA 的添加对血清中脂质代谢具有良好的调节作用，且 400CGA 组以上 3 个指标均表现出显著变化，故认为添加 400 mg/kg CGA 可有效调节血清中的脂质代谢。CGA 对草鱼肝胰脏的降脂作用亦体现较为明显，本试验条件下，C 组草鱼肝胰脏中的 TG、LDL-C 含量均显著高于试验组，而肝胰脏中 HDL-C 含量则显著低于 400CGA、600CGA 组，与 200CGA 组差异不显著，同样说明添加 CGA 可促进肝胰脏脂质代谢，此试验结果与 Shimoda 等[27]、De Sotillo 等[28]的研究结果基本一致，均证实 CGA 对脂质代谢具有较好的调节作用。

本试验结果显示，添加 400 和 600 mg/kg CGA 均可增强脂质代谢能力，根据 400CGA、600CGA 组试验结果中相关脂质代谢指标的含量，与 C 组结果对比，探讨最佳添加水平。400CGA 组血清中 T-CHO、HDL-C、LDL-C 含量的变化均达到显著水平，故认为添加 400 mg/kg CGA 对血清中脂质代谢的调节能力最佳。400CGA、600CGA 组各项肝胰脏脂质代谢指标均显示出与 C 组的显著差异，与 C 组相比，400CGA 组肝胰脏中 TG、T-CHO、LDL-C 分别降低了 64.73%、47.05%、57.95%，肝胰脏中 HDL-C 含量提高了 74.95%，600CGA 组肝胰脏中 TG、T-CHO、LDL-C 分别降低了 60.07%、41.16%、45.35%，肝胰脏中 HDL-C 含量提高了 76.04%，由此可见，400 mg/kg CGA 对肝胰脏脂质代谢的调节作用强于 600 mg/kg CGA。综合得出，400 mg/kg CGA 的对血清和肝胰脏的脂质代谢调节作用较好。

3.3.2 肝胰脏中脂质代谢酶

LPL 主要作用是分解乳糜微粒、极低密度脂蛋白和中密度脂蛋白中的 TG 为游离脂肪酸和甘油，以供机体组织储存和氧化利用[32]。HL 主要分解乳糜残粒中的 TG，并参与高密度脂蛋白的重构、极低密度脂蛋白的代谢以及 T-CHO 的逆向转运的调节[33]。本试验中，添加

CGA 可有效地提高肝胰脏中脂质代谢酶的活力，且在 400CGA 组与 C 组差异达显著水平，与 C 组组对比，400CGA 组肝胰脏中 LPL、TL、HL 活力分别提高了 57.95%、74.95%、86.24%，可知添加 400 mg/kg CGA 可大幅提高肝胰脏脂质代谢酶活力，且添加 400 mg/kg CGA 使肝胰脏中 TG、T-CHO 含量显著降低，推测此结果可能是 CGA 添加致使肝胰脏 LPL 与 HL 活力升高，促进肝胰脏中 TG 分解为游离脂肪酸，从而降低肝胰脏中 TG、T-CHO 含量。由此可知，添加 400 mg/kg CGA 可增强草鱼肝胰脏在高脂环境下的脂质代谢能力。

3.3.3 高脂饲料中添加 CGA 对草鱼肝胰脏细胞中脂质沉积的影响

锇酸与脂质反应生成黑色锇和脂质复合物，不溶于固定过程中的二甲苯等有机溶剂，因而锇酸染色能精确的显示细胞中脂肪滴的大小及数量[34]。本试验中，肝胰脏切片锇酸染色后经透射电镜观察发现，C 组脂滴数量较多且脂滴体积也相对较大，脂滴密集分布于肝细胞中，表明在肝胰脏中有大量的脂质沉积，长期饲喂高脂饲料使草鱼肝胰脏产生了严重的脂质代谢负担，若不能及时降解肝胰脏中的脂质，易使脂质大量沉积在肝胰脏组织中，造成营养性脂肪肝等疾病，影响肝脏正常生理功能[35]。与 C 组相比，试验组脂滴体积都明显较小，且分布较稀疏，说明高脂饲料中添加 CGA 降低了肝胰脏中脂质含量，减少脂肪沉积，尤其以 400CGA 和 600CGA 组最为明显。进一步观察比较，400CGA 组中肝胰脏中脂滴数量、体积大小、分布密度均小于 600CGA 组，可知 400CGA 组肝胰脏脂质沉积少于 600CGA 组，CGA 添加水平为 400 mg/kg 时肝胰脏脂质代谢能力优于添加水平为 600 mg/kg 时。由此可以说明，高脂饲料中 CGA 添加水平为 400mg/kg 时能促进肝胰脏脂质代谢。

6 结　论

本试验条件下，建议草鱼幼鱼阶段的高脂饲料中添加 CGA 400mg/kg，可增强草鱼脂质代谢能力，促进草鱼生长。

参考文献：

[1] 尾崎久雄.鱼类消化生理[M].吴尚忠,译.上海:上海科学技术出版社,1983.

[2] GRISDALE-HELLAND B,HELLAND S J.Replacement of protein by fat and carbohydrate in diets for atlantic salmon (*Salmo salar*) at the end of the freshwater stage[J].Aquaculture,1997,152(1/2/3/4):167–180.

[3] CHO C Y,KAUSHIK S J.Nutritional energetics in fish:energy and protein utilization in rainbow

trout (*Salmo gairdneri*)[J].World Review of Nutrition and Dietetics,1990,61:132–172.

[4] 阳会军,田丽霞,黄俊娃,等.草鱼的营养需要与饲料营养参数(一)[J].广东饲料,2013,22(9):37–39.

[5] LEE S M,JEON I G,LEE J Y.Effects of digestible protein and lipid levels in practical diets on growth,protein utilization and body composition of juvenile rockfish (*Sebastes schlegeli*)[J].Aquaculture,2002,211(1/2/3/4):227–239.

[6] REGOST C,ARZEL J,CARDINAL M,et al.Dietary lipid level,hepatic lipogenesis and flesh quality in turbot (*Psetta maxima*)[J].Aquaculture,2001,193(3/4):291–309.

[7] PERES H,OLIVATELES A.Effect of dietary lipid level on growth performance and feed utilization by European sea bass juveniles (*Dicentrarchus labrax*)[J].Aquaculture,1999,179(1/2/3/4):325–334.

[8] 王芸,李正,李健,等.绿原酸对凡纳滨对虾抗氧化系统及抗低盐度胁迫的影响[J].生态学报,2013,33(18):5704-5713.

[9] TG G,DMIII G.Dietary lipid level but not *L*-carnitine affects growth performance of hybrid striped bass (*Morone chrysops* ♀×*M.saxatilis* ♂)[J].Aquaculture,2000,190(3/4):237–246.

[10] FARAH A,MONTEIRO M,DONANGELO C M,et al.Chlorogenic acids from green coffee extract are highly bioavailable in humans[J].The Journal of Nutrition,2009,138(12):2309–2315.

[11] LI S Y,BIAN H T,LIU Z,et al.Chlorogenic acid protects MSCs against oxidative stress by altering FOXO family genes and activating intrinsic pathway[J].European Journal of Pharmacology,2012,674(2/3):65–72.

[12] LEPELLEY M,CHEMINADE G,TREMILLON N,et al.Chlorogenic acid synthesis in coffee:An analysis of CGA content and real-time RT-PCR expression of *HCT*,*HQT*,*C3H*1,and *CCoAOMT*1 genes during grain development in *C.canephora*[J].Plant Science,2007,172(5):978–996.

[13] RUAN Z,YANH Y H,ZHOU Y,et al.Metabolomic analysis of amino acid and energy metabolism in rats supplemented with chlorogenic acid[J].Amino Acids,2014,46(9):2219–2229.

[14] BEAM J R,GIBSON A L,KERKSICK C M,et al.Effect of post-exercise caffeine and green coffee bean extract consumption on blood glucose and insulin concentrations[J].Nutrition,2015,31(2):292–297.

[15] SHI H Y,DONG L,BAI Y H,et al.Chlorogenic acid against carbon tetrachloride-induced liver fibrosis in rats[J].European Journal of Pharmacology,2009,623(1/2/3):119–124.

[16] WANG Y,LI Z,LI J,et al.Effects of dietary chlorogenic acid on growth performance,antioxidant capacity of white shrimp *Litopenaeus vannamei* under normal condition and combined stress of low-salinity and nitrite[J].Fish & Shellfish Immunology,2015,43(2):337–345.

[17] SUN L J,SUN J J,THAVARAJ P,et al.Effects of thinned young apple polyphenols on the quality of grass carp (*Ctenopharyngodon idellus*) surimi during cold storage[J].Food Chemistry,2017,224:372–381.

[18] 张纯.绿原酸对建鲤生长、抗氧化和非特异性免疫功能的影响[D].硕士学位论文.雅安:四川农业大学,2011.

[19] 王芸,李健,李正,等.绿原酸诱导凡纳滨对虾抗氧化功能及抵御低盐度胁迫的响应[J].中国水产科学,2014,21(2):340–350.

[20] 余小领.冷冻和解冻工艺对猪肉保水性和组织结构的影响研究[D].博士学位论文.南京:南京农业大学,2007.

[21] OLTHOF M R,HOLLMAN P C,KATAN M B.Chlorogenic acid and caffeic acid are absorbed in humans[J].The Journal of Nutrition,2001,131(1):66–71.

[22] LAFAY S,GIL-IZQUIERDO A,MANACH C,et al.Chlorogenic acid is absorbed in its intact form in the stomach of rats[J].The Journal of Nutrition,2006,136(5):1192–1197.

[23] 肖洋.绿原酸对中华鳖生长性能和非特异性免疫的影响[D].硕士学位论文.雅安:四川农业大学,2010.

[24] 朱卫,刘鉴毅,庄平,等.饲料脂肪水平对点篮子鱼生长和体成分的影响[J].海洋渔业,2013,35(1):65–71.

[25] 李祥英.自拟中草药添加剂对绵羊育肥效果的观察[J].中兽医学杂志,2008(6):51.

[26] 赵国志.油脂在饲料中的应用[J].粮食与饲料工业,2000(8):14–15.

[27] SHIMODA H,SEKI E,AITANI M.Inhibitory effect of green coffee bean extract on fat accumulation and body weight gain in mice[J].BMC Complementary and Alternative Medicine,2006,6(1):9.

[28] DE SOTILLO D V R,HADLEY M.Chlorogenic acid modifies plasma and liver concentrations of:cholesterol,triacylglycerol,and minerals in (*fa/fa*) Zucker rats[J].The Journal of Nutritional Biochemistry,2002,13(12):717–726.

[29] FRANK J,KAMAL-ELDIN A,RAZDAN A,et al.The dietary hydroxycinnamate caffeic acid and its conjugate chlorogenic acid increase vitamin e and cholesterol concentrations in Sprague-Dawley rats[J].Journal of Agricultural and Food Chemistry,2008,51(9):2526–2531.

[30] 张兰涛,常翠青,刘阳,等.氯原酸对*db/db*小鼠糖脂代谢紊乱的影响及其作用机制[J].中国医学科学院学报,2011,33(3):281–286.

[31] 王强,陈东辉,邓文龙.金银花提取物对血脂与血糖的影响[J].中药药理与临床,2007,23(3):40–42.

[32] FAULCONNIER Y,BONNET M,BOCQUIER F,et al.Effects of photoperiod and feeding level on adipose tissue and muscle lipoprotein lipase activity and mRNA level in dry non-pregnant sheep[J].British Journal of Nutrition,2001,85(3):299–306.

[33] 严瑾,范春雷.人类肝脂肪酶的研究进展[J].中国动脉硬化杂志,2003,11(6):596–600.

[31] 周永梅,陈敬文,赖续文,等.冷冻切片锇酸染色法在脂肪染色中的应用[J].临床与实验病理学杂志,2016,32(4):467–468.

[35] RUYTER B,MOYA-FALCÓN C,ROSENLUND G,et al.Fat content and morphology of liver and intestine of Atlantic salmon (*Salmo salar*):effects of temperature and dietary soybean oil[J].Aquaculture,2006,252(2/3/4):441–452.

Effects of Chlorogenic Acid Supplementation in High-Fat Diets on Growth Performance, Lipid Metabolism of Grass Carp（*Ctenopharyngodon idellus*）

YANG Tianjun[1,2] CHEN Yanliang[1] LIU Wenshu[1] GUO Xiaoze[1] TANG Yanqiang[1] LIU Yuting[1,2] LI Debing[2*] LI Siming[1*]

*Corresponding author: LI Debing, professor, E-mail: 932088457@qq.com； LI Siming, professor, E-mail： Lisiming16@126.com (责任编辑　王智航)

(1. *Jiangxi Academy of Agricultural Science, Nanchang* 330200, *China*; 2. *College of Animal Science and Technology, Sichuan Agricultural University, Chengdu* 611130, *China*)

Abstract： This study aimed to investigate the effects of chlorogenic acid （CGA） supplementation in high-fat diets on growth performance, lipid metabolism of grass carp （*Ctenopharyngodon idellus*）. A total of 360 healthy and grass carp with an initial body weight (7.53±0.30） g were randomly divided into 4 groups with 3 replicates per group and 30 craps per replicate. Craps in C （control）, 200CGA, 400CGA and 600CGA groups were fed high-fat diet (crude lipid was about 9.00%) supplemented with 0， 200， 400 and 600 mg/kg CGA for 11 weeks, respectively. The results showed that compared with C group: 1) 400CGA group had significantly higher final body weight (FBW), weight gain rate (WGR) and protein efficiency ratio (PER) of diet (P<0.05), FBW increased by 15.90% , WGR increased by 22.96%m and PER increased by 17.75%, 400CGA group had significantly lower feed coefficient (P<0.05), which was decreased by 14.86%. 2) 200CGA and 400CGA groups had significantly lower serum contents of total cholesterol (T-CHO) and low density lipoprotein cholesterol (LDL-C) (P<0.05), experimental groups had significantly higher serum content of high density lipoprotein cholesterol (HDL-C) (P<0.05). 3) Experimental groups had significantly lower contents of triglyceride (TG), T-CHO and LDL-C in hepatopancreas (P<0.05), and significantly higher activities of lipase(HL) and total lipase(TL) in hepatopancreas (P<0.05); 400CGA and 600CGA groups had significantly higher HDL-C content in hepatopancreas (P<0.05); 400CGA group had significantly higher lipoprotein lipase (LPL) activity in hepatopancreas (P<0.05). 4) hepatopancreas sections under transmission electron microscope showed that lipid droplets were smaller, littleness and scattered in 400CGA and 600CGA groups. As a result, the supplementation of 400 mg/kg CGA in high-fat diets can promote lipid metabolism and growth performance of grass carp.

Key words: grass carp; chlorogenic acid; high-fat diet; growth performance; lipid metabolism